

令和4年度 希少感染症診断技術研修会

RSウイルス

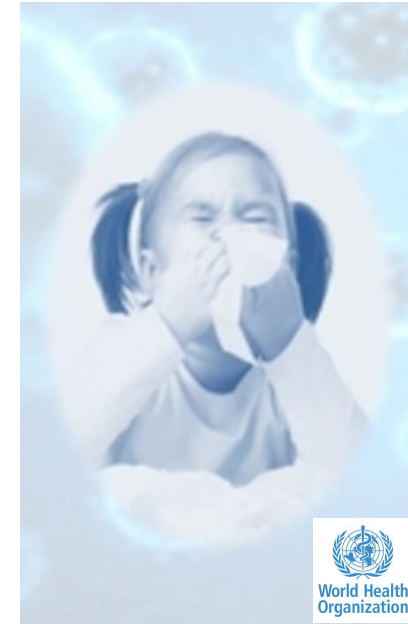
国立感染症研究所ウイルス第3部第5室
白戸憲也

2023年2月15日



Respiratory Syncytial (RS) ウイルス

ニューモウイルス科
オルソニューモウイルス属
ヒトオルソニューモウイルス
(通称)ヒトRSウイルス

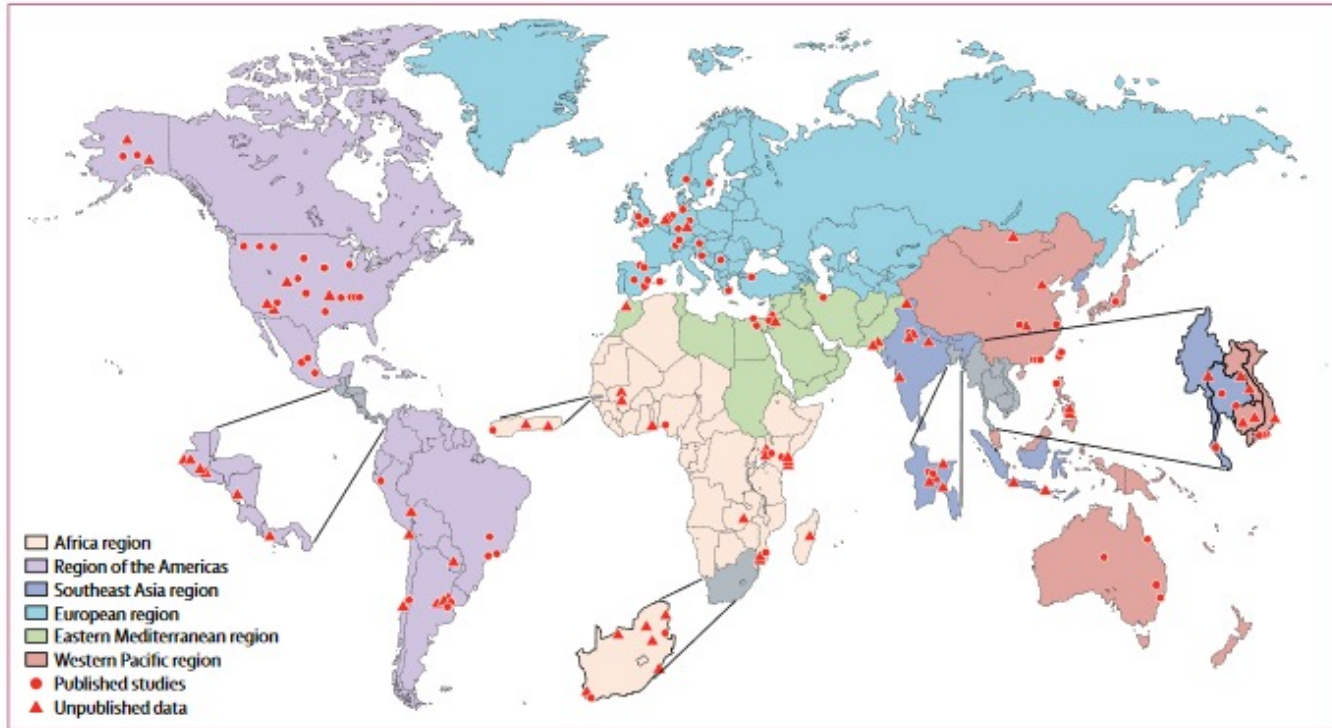


- 世界中に分布し、ヒトに呼吸器感染を引き起こす。
- 軽症の感冒様症状から下気道感染に至るまで様々な呼吸器症状。
- ほぼすべてのヒトが幼児期に感染し、特に6か月齢未満の乳幼児で重症化。
- 高齢者や免疫抑制のある患者で重症化する。
- ワクチンはなく、過去のホルマリン不活化ワクチントライアルでは、逆にワクチン接種群で症状が悪化し、2名死亡した(死亡したのはワクチン接種後のRSウイルス感染に起因)*。
- ヒト化モノクローナル抗体のパリビズマブ(商品名シナジス)が予防的に用いられている。

* Chin J, Magoffin RL, Shearer LA, Schieble JH, Lennette EH. 1969. Field evaluation of a respiratory syncytial virus vaccine and a trivalent parainfluenza virus vaccine in a pediatric population. Am J Epidemiol 89:449-463.
Fulginiti VA, Eller JJ, Sieber OF, Joyner JW, Minamitani M, Meiklejohn G. 1969. Respiratory virus immunization. I. A field trial of two inactivated respiratory virus vaccines; an aqueous trivalent parainfluenza virus vaccine and an alum-precipitated respiratory syncytial virus vaccine. Am J Epidemiol 89:435-448.

Respiratory Syncytial (RS) ウィルス

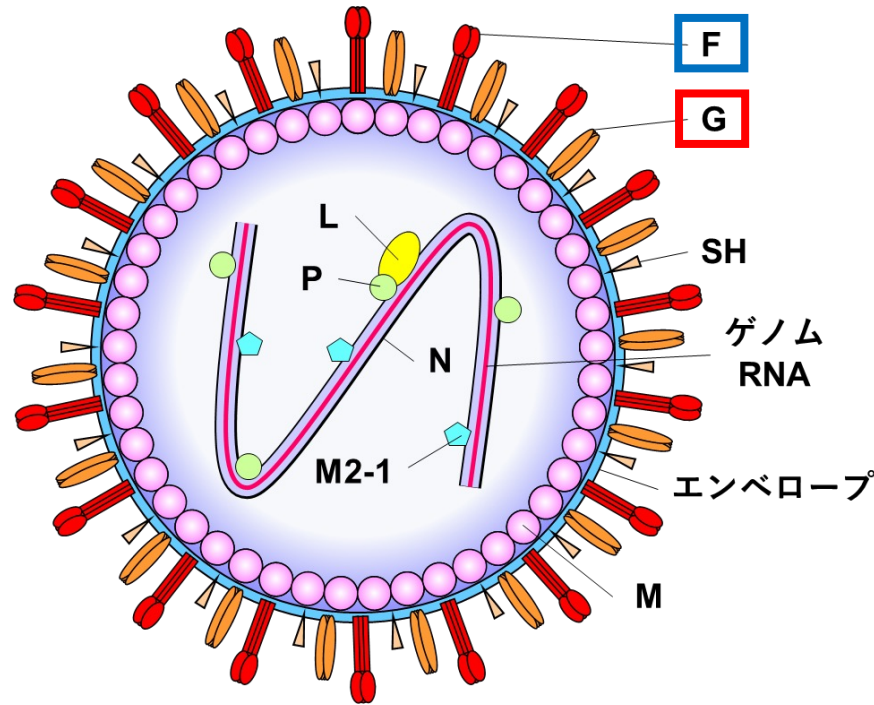
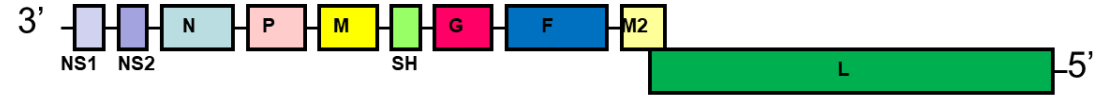
2015年の5歳未満における大規模サーベイランス



世界中で急性下気道感染の28%にあたる3300万ケースでRSウイルスが原因と推定。うち約300万のケースが入院している。

RSウイルス感染による死者は約12万人で、半数は入院患者、半数は病院外で死亡している。死亡例の99%は発展途上国で見られる。

Respiratory Syncytial (RS) ウィルス

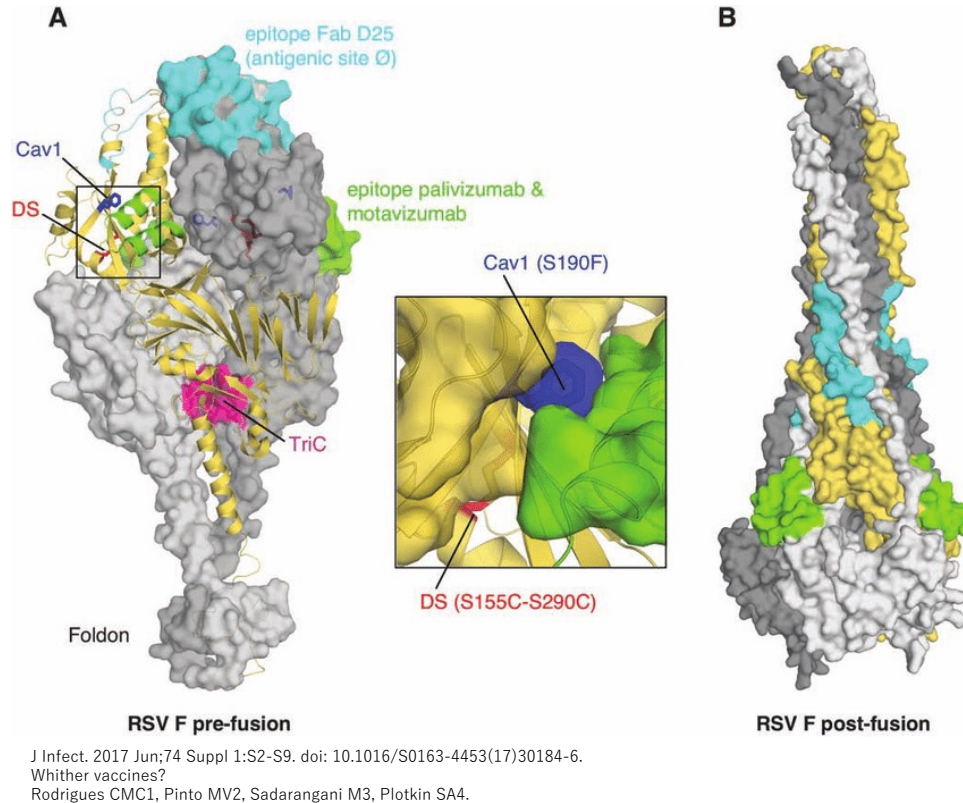


マイナス鎖の1本鎖RNAウィルス
11種類のたんぱく質をコードしている。

Gたんぱく質→細胞への接着に関与している
と言われる。
宿主側の攻撃標的であり、変異しやすい。
Gの遺伝子配列で大きくAとBに分けられる
(Gから見ると血清型は2つ)

Fたんぱく質→ウィルス膜と細胞膜の膜融合に
関与している。ウィルスの中和に重要。

Respiratory Syncytial (RS) ウィルス



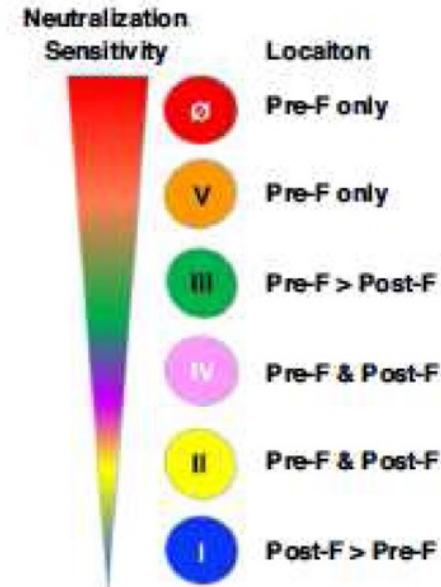
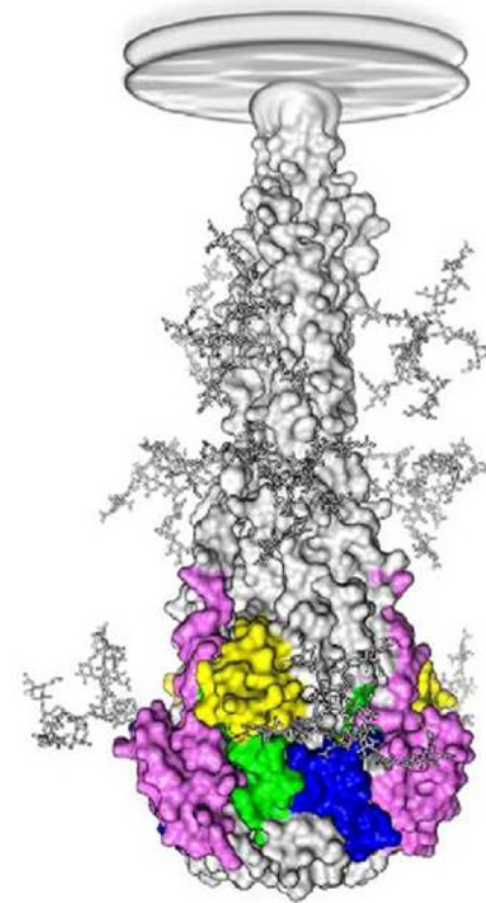
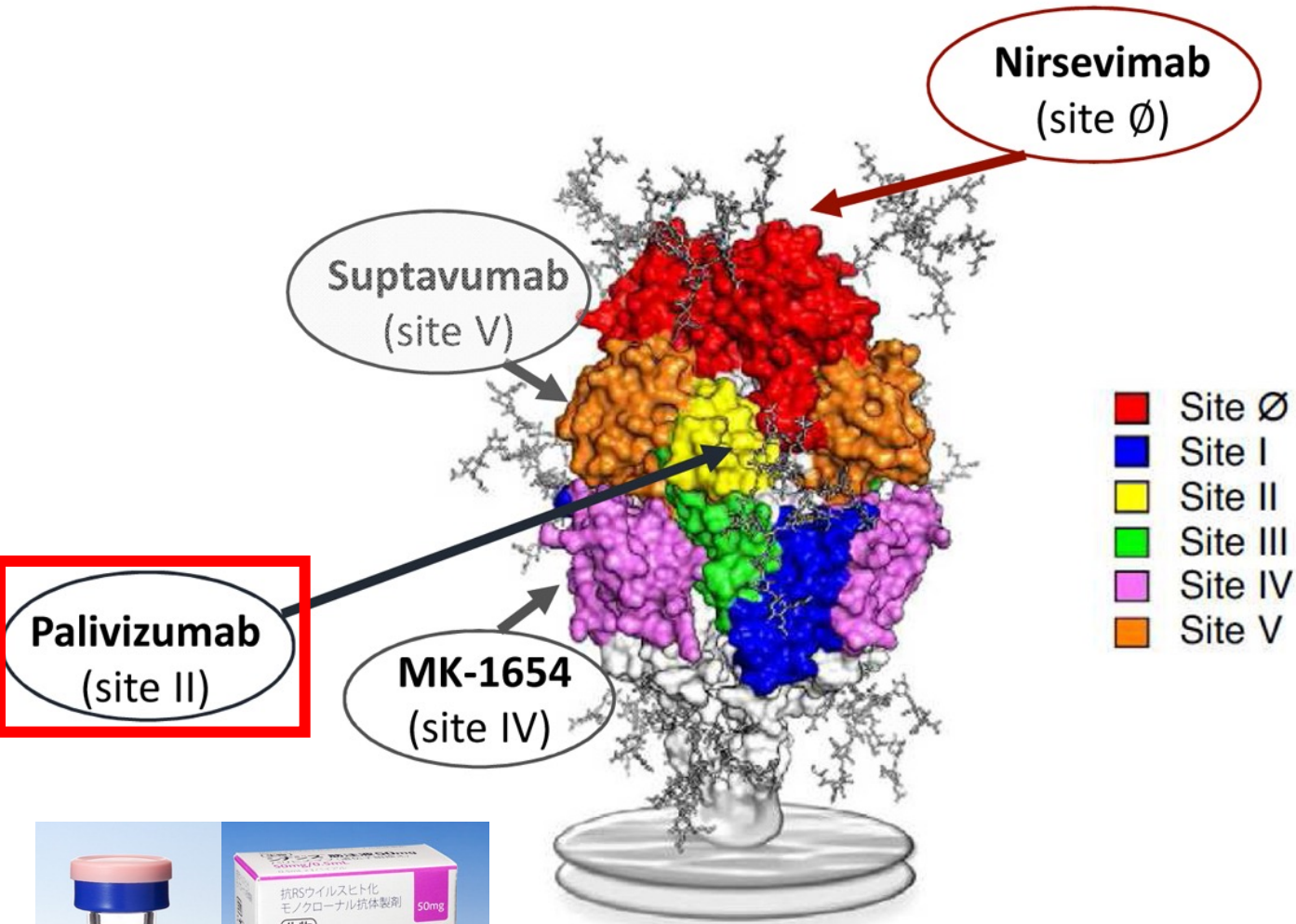
Fタンパク質

- 構造変化を起こしてウィルス膜と細胞膜の膜融合を引き起こすタンパク質。
- ほとんど変異せず、サブグループA、Bのウィルスとともに同じ抗原性である。
(Fタンパク質から見ると血清型は1つ)
- パリビズマブの標的である。

• Pre-fusion(構造変化前)とPost-fusion(構造変化後)の2つの形態があり、Pre-fusion(構造変化前)に対する抗体が中和活性を持つ。
ホルマリン不活化すると、ほとんどのFがPost-fusion(構造変化後)になってしまう。

Pre-F

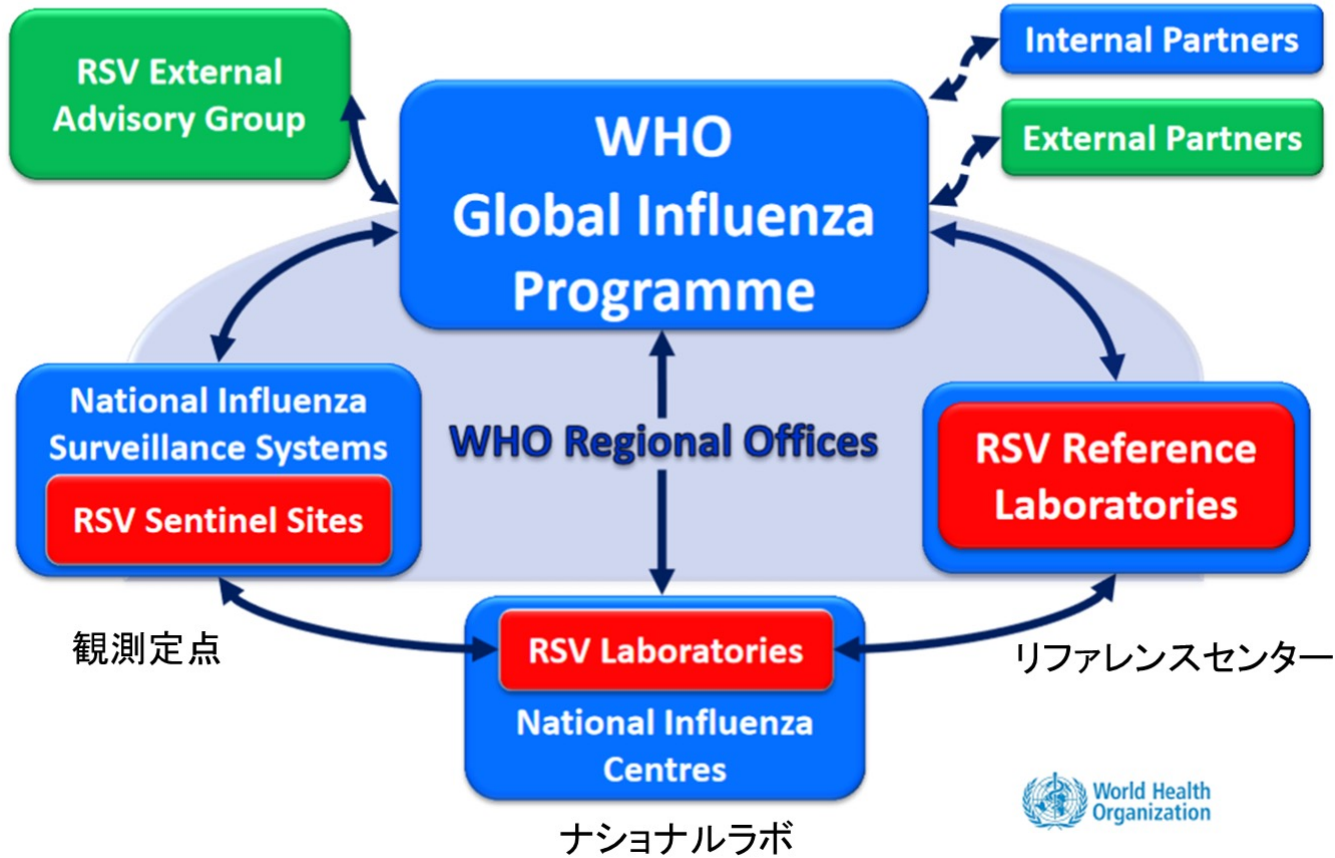
Post-F



ヒト化モノクローナル抗体製剤のパリビズマブ(シナジス)が予防的投与に使用されている。(エピトープの site IIを認識)
(流行期の間、月1回筋注)

RSウイルスのグローバルサーベイランスシステム

WHO Global RSV Surveillance System

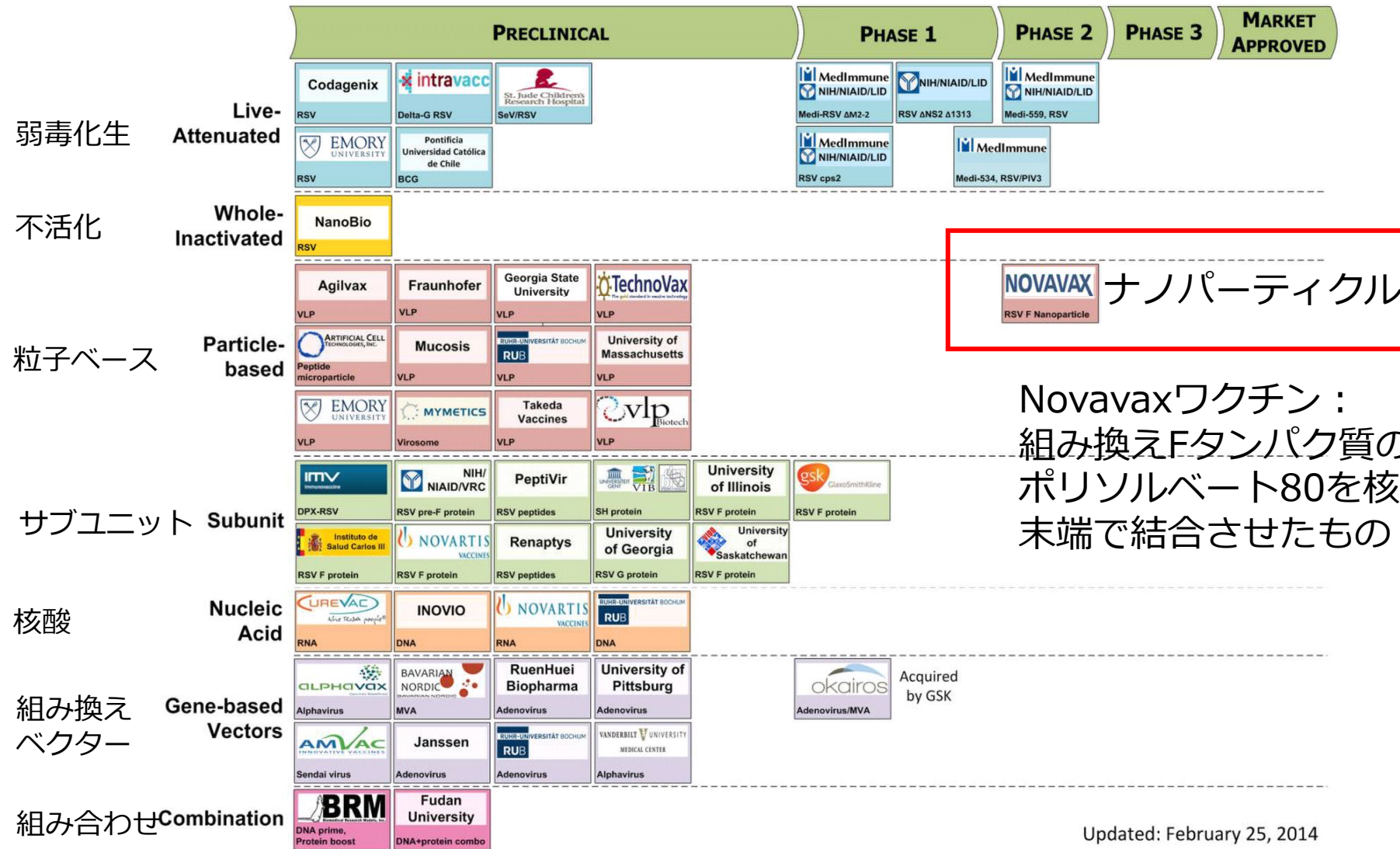


世界保健機関(WHO)は2015年から既存のグローバルインフルエンザサーベイランスシステム(GISRS)を流用したRSウイルスのサーベイランスシステムを構築するための議論を始めた。

背景に有力なワクチン候補が承認される見通しであったことがある。

2014年時のワクチン開発状況

RSV Vaccine Snapshot



NOVAVAX ナノパーティクル
RSV F Nanoparticle

Novavaxワクチン：
組み換えFタンパク質の3量体同士を
ポリソルベート80を核として疎水性
末端で結合させたもの

Updated: February 25, 2014

Source <http://sites.path.org/vaccinedevelopment/respiratory-syncytial-virus-rsv/>

PRESS RELEASE

[View printer-friendly version](#)

[<< Back](#)

Novavax Initiates Global Pivotal Phase 3 Trial of the RSV F Vaccine to Protect Infants via Maternal Immunization

2015年12月3日
Novavaxは母子免疫用RSV FワクチンのグローバルPhase3試験を始めました。

The Prepare trial is a randomized, observer-blinded, placebo-controlled trial that utilizes a group sequential design, offering flexibility in trial size that is responsive to the rate of endpoint events and evolving evidence of efficacy while maintaining the trial's blinding integrity. Thus, the eventual sample size may vary between 5,000 and 8,255 pregnant women over a period of two to four years. Participants are being vaccinated at a number of global clinical sites in advance of each region's RSV season. Novavax **previously announced** it was awarded a grant up to \$89 million from the Bill & Melinda Gates Foundation to support development of this RSV F Vaccine Phase 3 clinical trial in pregnant women.

The primary objective of the Prepare trial is to determine the efficacy of maternal immunization with the RSV F Vaccine against symptomatic RSV lower respiratory tract infection (LRTI) with hypoxemia in infants through the first 90 days of life. The trial's objectives, endpoints and statistical approach were finalized following a recent End of Phase 2 meeting with the FDA. The results of a Phase 2 trial in pregnant women, as reported by Novavax in **September 2015**, provided the basis for the Phase 3 trial design, including the determination of anti-RSV antibody responses in mothers and antibody transfer from mothers to infants.

インフルエンザ監視・応答システム(GISRS)

パンデミックポテンシャルの高いインフルエンザを国際的に監視するためのネットワーク

WHO Global Influenza Surveillance and Response System

28 September 2015

Established in 1952

FluA
1918-19
1957-58
1968-69
2009

CoV
2002-3
2012-
2019-

WHO CC : 6
NIC : 143

- ▲ National Influenza Centre
- WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza
- WHO Collaborating Centre for the Surveillance, Epidemiology and Control of Influenza
- WHO Collaborating Centre for Studies on the Ecology of Influenza in Animals
- * WHO Essential Regulatory Laboratory
- WHO H5 Reference Laboratory

Not applicable 0 875 1,750 3,500 Kilometers

The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines.

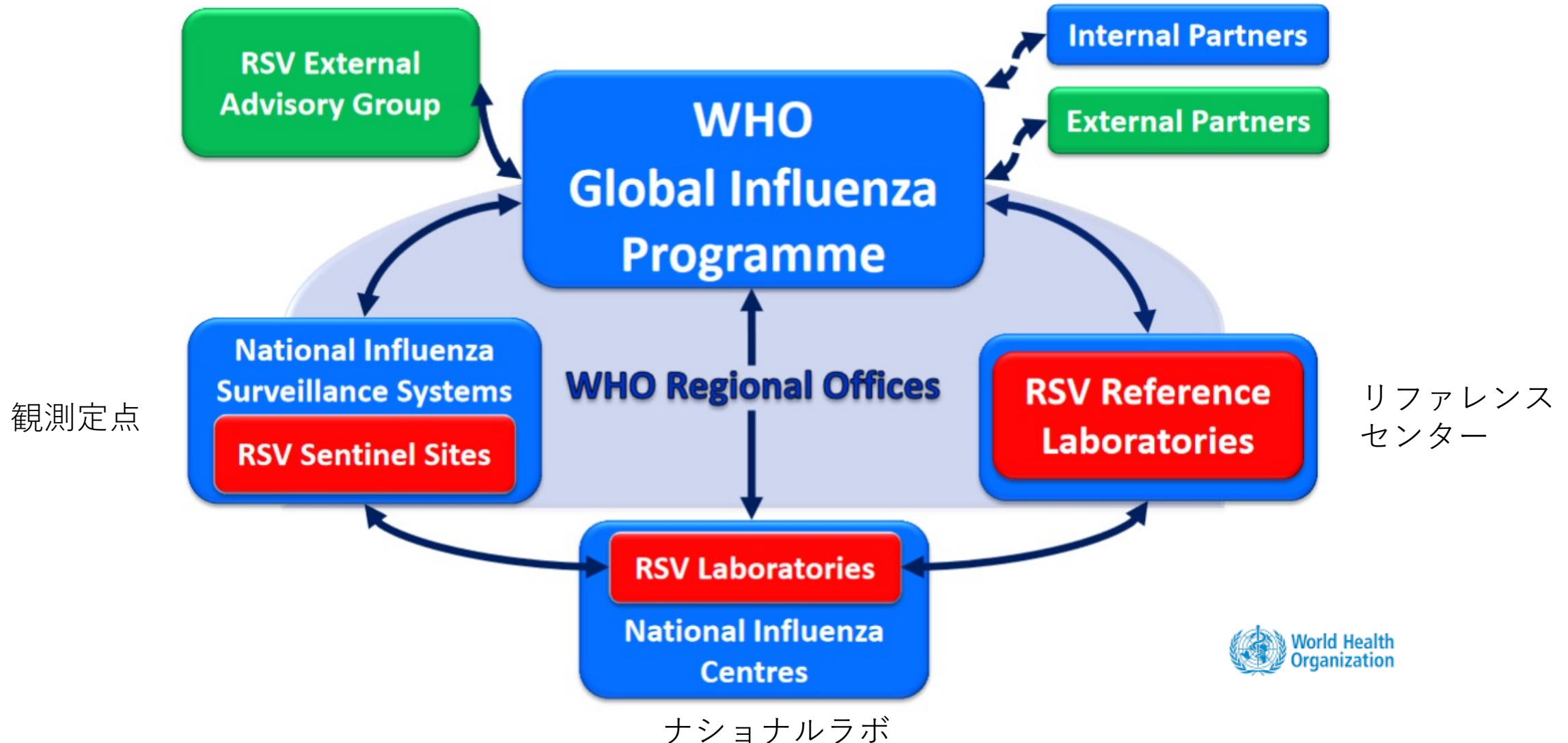
Data Source: Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS), WHO
Map Production: Global Influenza Programme



この枠組みをRSウイルスのグローバルサーベイランスに利用する

RSウイルスのグローバルサーベイランスシステム

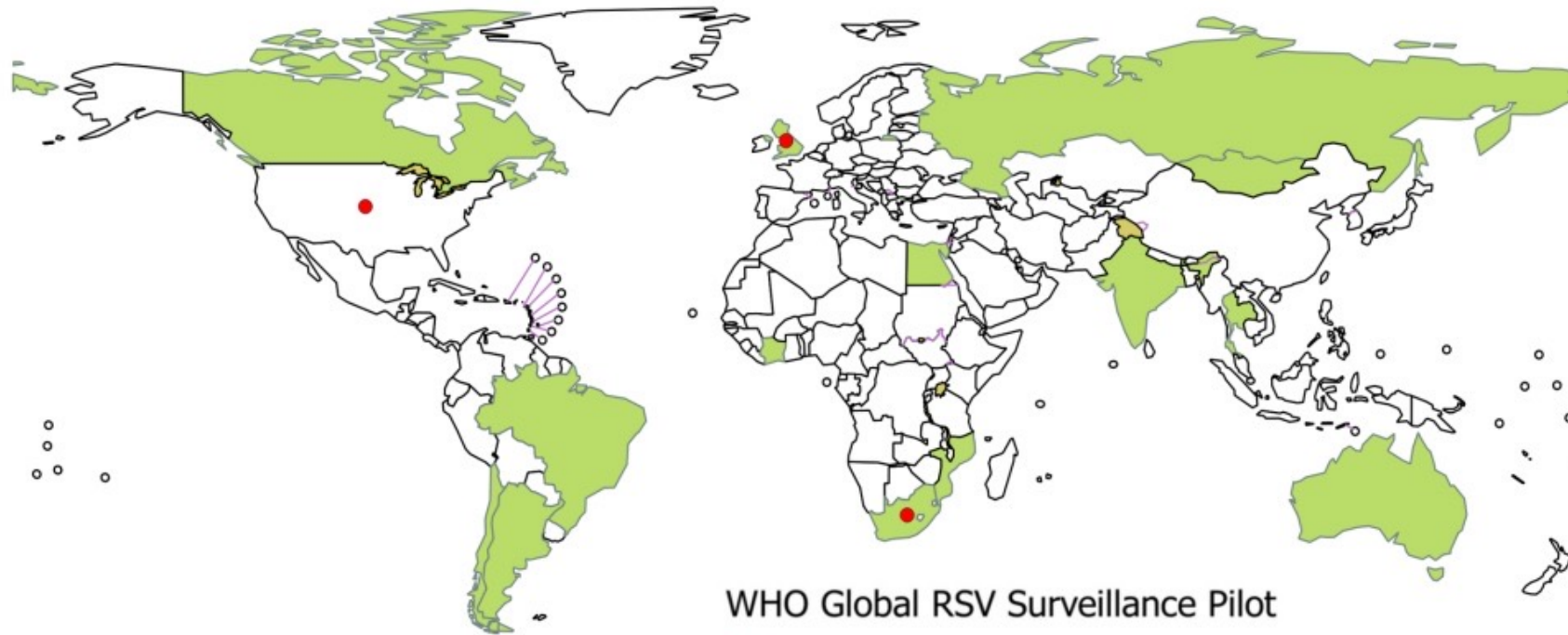
WHO Global RSV Surveillance System



RSウイルスのグローバルサーベイランスシステム

- ・有望なワクチン候補があり、アメリカで2018年頃に承認される見通とされ、それを受けて2015年頃からグローバルサーベイランスの議論がスタートしている。
- ・コストダウンなどの観点から、既存のGISRSにはめ込む形で実施。
- ・2016年から3年の期間で、代表14か国によるPhase I パイロットサーベイランスが行われた。
- ・2018年11月から2021年10月までPhase II パイロットサーベイランスが行われた。
- ・当面の最大の目的は
 1. GISRSでRSサーベイランスを行うためにマッチしない部分の洗い出し。
(症例定義など。→ILI、SARIから発熱を引いたものを採用)
 2. **疾病負荷***の算出 (分母のあるサーベイランスが必要。)

1st phase参加国



WPRO地域は最初 Regional Labが決まっていなかったが、最終的にオーストラリアに。

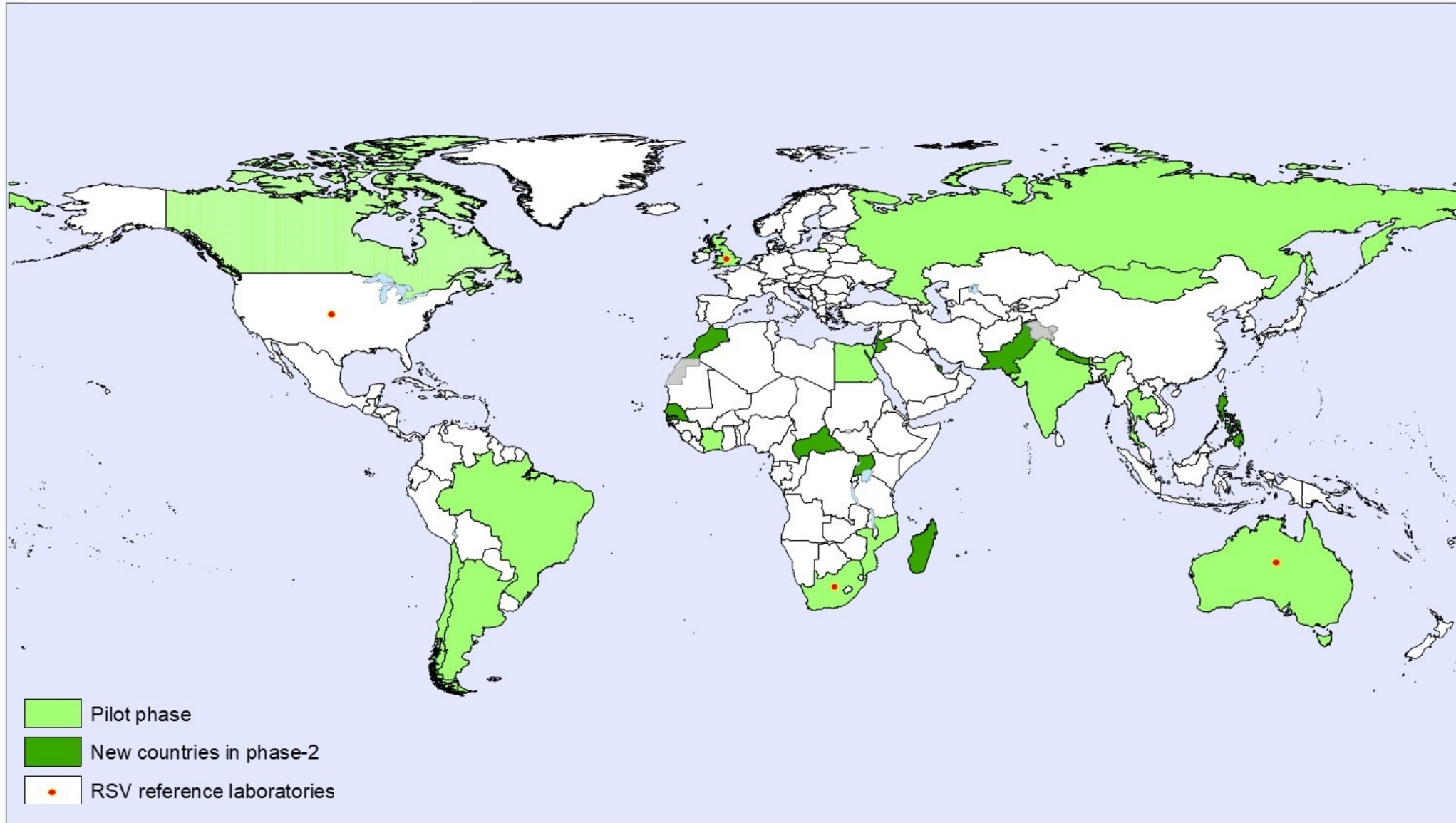
RSV participating countries:

- | | | | |
|------------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1. Côte d'Ivoire | 5. Brazil | 9. United Kingdom | 13. Thailand |
| 2. Mozambique | 6. Chile | 10. Egypt | 14. Australia |
| 3. South Africa | 7. Canada | 11. Mongolia | |
| 4. Argentina | 8. Russian Federation | 12. India | |



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

© WHO 2017. All rights reserved.



The designations employed and the presentation of the material in this publication do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of WHO concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represents approximate border lines for which there may not yet be full agreement. [1] All references to Kosovo in this document should be understood to be in the context of United Nations Security Council resolution 1244 (1999).

Data Source: GISRS EZCollab Survey
Map Production: WHO Global Influenza Programme
World Health Organization



© WHO 2021. All rights reserved.

RSウイルスのグローバルサーベイランスシステム

- ・我が国では2003年より感染症法における5類感染症となり、「患者発生報告」の対象となっている。約3,000の小児科定点医療機関による届け出による報告であり、陽性例の報告のみである。(確定には検査陽性が必要。抗原検査で可)
- ・我が国では小児科定点による観測であるが、グローバルサーベイランスでは全年齢層を対象としている。
- ・グローバルサーベイランスでは患者の症例定義が定まっており、入院患者を対象とした重症呼吸器感染(SARI)サーベイランス、外来患者を対象としたインフルエンザ様疾患(ILI)サーベイランスを行うとされる。(分母のあるactiveサーベイ)
- ・我が国の現行のサーベイランスは**分母がない、小児のみ対象、症例定義が定まっていない**ためWHOの要求するものとは大きく異なっている。

小児における流行トレンドの把握には有用であってpassiveサーベイに利点がないわけではない。

RSウイルスのグローバルサーベイランスシステム

- ・RSウイルスのグローバルサーベイランスシステムではRSウイルスの検出にリアルタイムRT-PCR法を用いるとされる。

迅速診断キットは遺伝子検出法と比べて感度が低いこと、成人での実用が困難であることからサーベイランスの方法としては認められていない。

- ・我が国の病原体発生動向調査に、地衛研からのRSウイルス遺伝子検出情報があげられているが、2014年の感染症法改正において都道府県単位で対象として選択できるようになるまで、RSウイルスは「病原体検出報告」の対象ではなかった。(平成26年11月21日法律第115号)

- ・現状では、全国的に統一された方法(リアルタイムRT-PCR法)でRSウイルス検出を行う体制となっていない。

我が国がRSウイルスのグローバルサーベイランスにどのように関与していくかは議論が必要である。

日本が参加していない理由 一番最初の会議に決定権のある人間が出ていなかった。

既存のシステムが要求と違いすぎて、法、予算と簡単にやると言えない部分がたくさん。

RSVのグローバルサーベイランス(1st Phase)における検査法

・ 米国CDC法① Pan-RSV assay

2016-18で行われた1st Phase パイロットサーベイランスで採用されている。

サブグループA、Bに共通するプライマー・プローブセットを用いてスクリーニング検査し、陽性であった場合は別にサブグループする。**2010年に設計。**

→ヒトオルソニューモウイルス病原体検出マニュアル2.0版から掲載

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS one

The Burden of Hospitalized Lower Respiratory Tract Infection due to Respiratory Syncytial Virus in Rural Thailand

Alicia M. Fry^{1*}, Malinee Chittaganpitch², Henry C. Baggett⁴, Teresa C. T. Peret³, Ryan K. Dare³, Pongpun Sawatwong⁴, Somsak Thamthitawat⁴, Peera Areerat⁴, Wichai Sanasuttipun⁴, Julie Fischer^{4*}, Susan A. Maloney⁴, Dean D. Erdman³, Sonja J. Olsen⁵

1 Influenza Division, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States of America, 2 National Institute of Health, Thailand Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand, 3 Division of Viral Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States of America, 4 International Emerging Infections Program, Thai MOPH-U.S.CDC Collaboration, Nonthaburi, Thailand, 5 Division of Emerging Infections and Surveillance Services, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States of America

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0015098>

RSVのグローバルサーベイランス(2nd Phase)における検査法

Assay 1: Real-Time RT-PCR Assay for Respiratory Syncytial Virus (RSV)- ver.003.2016-CDC) **米国CDC法①**

Assay 2a: **VIDRL** Duplex Real - Time RT - qPCR for the Typing of RSV using the SensiFAST™ Probe Lo - ROX One - Step Kit (Bioline, London, England) オーストラリア

Assay 2b: **VIDRL** Duplex- Real - Time RT - qPCR for the Typing of RSV using the TaqMan® Fast Virus 1 - Step Master Mix Kit (ABI, Life Technologies, Waltham, MA) オーストラリア

Assay 3: CDC Respiratory Syncytial Virus Real-time RT-PCR Panel (RUO): RSV_RUO-01 **米国CDC法② ?**

RSVのグローバルサーベイランス(1st Phase)における検査法

・ 米国CDC法① Pan-RSV assay

2016-18で行われた1st Phase パイロットサーベイランスで採用されている。

サブグループA、Bに共通するプライマー・プローブセットを用いてスクリーニング検査し、陽性であった場合は別にサブグループする。**2010年に設計。**

→ヒトオルソニューモウイルス病原体検出マニュアル2.0版から掲載

OPEN ACCESS Freely available online PLOS one

The Burden of Hospitalized Lower Respiratory Tract Infection due to Respiratory Syncytial Virus in Rural Thailand

Alicia M. Fry^{1*}, Malinee Chittaganpitch², Henry C. Baggett⁴, Teresa C. T. Peret³, Ryan K. Dare³, Pongpun Sawatwong⁴, Somsak Thamthitwat⁴, Peera Areerat⁴, Wichai Sanasuttipun⁴, Julie Fischer^{4,5}, Susan A. Maloney⁴, Dean D. Erdman³, Sonja J. Olsen⁵

1 Influenza Division, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States of America, 2 National Institute of Health, Thailand Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand, 3 Division of Viral Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States of America, 4 International Emerging Infections Program, Thai MOPH-U.S.CDC Collaboration, Nonthaburi, Thailand, 5 Division of Emerging Infections and Surveillance Services, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, United States of America

CDC method 1		Long(AY911262)
Forward	GGCAAATATGGAAACATACGTGAA	3254-3277
Reverse	TCTTTTTCTAGGACATTGTAYTGAACAG	3337-3310
Probe	CTGTGTATGTGGAGCCTTCGTGAAGCT	FAM-BHQ 3306-3280

Matrix

```

Long : AACCAACCAGCCAA*TC*CAAAAC*CGCCACCTGGAA*AAATCGACAATATAGTTAC*AAAAAAGAAAGGGCTGGGGCAAATATGGAAACATAC : 3272
A2 : AACCAACCAGCCAA*TC*CAAAACTAAC*CCCGAA*AAATCTATAATATAGTTA--AAAAACGGAAAGGGCTGGGG-AAATATGGAAACATAC : 3225
B1 : ATCAATCAACCAACTGATCCA*TC*AGCAACCTGACGAAATTAACAATATAGTAA*CA*AAAAAAGAAACAAGATGGGGCAAATATGGAAACATAC : 3274
AaCAACCAgCCAAtccAaaactaacCAcCcgGAaaAAATc AcAATATAGTtAcaAAAAAaGaAaAgGgTGGGGCAAATATGGAAACATAC

Long : GTGAACAAGCTTCACGAAGGCTCCACATACACAGCTGCTGTTCAATACAATGTCTTAGAAAAAGAGATGACCTGCATCACTTACAATAT : 3363
A2 : GTGAACAAGCTTCACGAAGGCTCCACATACACAGCTGCTGTTCAATACAATGTCTTAGAAAAAGAGATGACCTGCATCACTTACAATAT : 3316
B1 : GTGAACAAGCTTCACGAAGGCTCCACATACACAGCAGCTGTTCAAGTACAATGTCTTAGAAAAAGATGATGATCCTGCATCACTAACAATAT : 3365
GTGAACAAGCTTCACGAAGGCTCCACATACACAGCTGCTGTTCAaTACAATGTccTAGAAAAAGAcGATGAcCCTGCATCACTtACAATAT
    
```

RSVのグローバルサーベイランス(1st Phase)における検査法

・ 米国CDC法① Pan-RSV assay

GenBankに登録のある2935の(ほぼ)全長配列を調べると半数近く(B)でreverseプライマー、probeにミスマッチがあるが、感度に影響しない。2016年以降、Bにおいてreverseプライマーの3末から5つ目に変異のあるものが増えてきている。(これも感度に影響しない。)



Article

Practical Validation of United States Centers for Disease Control and Prevention Assays for the Detection of Human Respiratory Syncytial Virus in Pediatric Inpatients in Japan

Reiko Suwa ¹, Yohei Kume ², Miyuki Kawase ¹, Mina Chishiki ², Takashi Ono ², Sakurako Norito ², Ko Sato ³, Michiko Okamoto ³, Satoru Kumaki ⁴, Yukio Nagai ⁵, Mitsuaki Hosoya ², Makoto Takeda ¹, Hidekazu Nishimura ³, Koichi Hashimoto ² and Kazuya Shirato ^{1,*}

		Year Registered	All	2010–2015	2016–2022
		Total number	2935	1069	1185
Pan-RSV	Forward	Number of mismatched sequences	60 (2.0%)	4 (0.37%)	6 (0.5%)
		(Within 10 nucleotides from the 3'-end)	57 (1.9%)	3 (0.28%)	6 (0.5%)
	Reverse	Number of mismatched sequences	1457 (49.7%)	456 (42.7%)	703 (59.3%)
		(Within 10 nucleotides from the 3'-end)	275 (9.4%)	10 (0.9%)	257 (21.7%)
	Probe	Number of mismatched sequences	1579 (53.8%)	623 (58.3%)	544 (45.9%)
Duplex	Forward	Number of mismatched sequences	N.D. *	N.D.	25 (2.1%)
		(Within 10 nucleotides from the 3'-end)	N.D.	N.D.	18 (1.5%)
	Reverse	Number of mismatched sequences	N.D.	N.D.	34 (2.9%)
		(Within 10 nucleotides from the 3'-end)	N.D.	N.D.	3 (0.3%)

* N.D., not determined.

RSVのグローバルサーベイランス(1st Phase)における検査法

・ 米国CDC法① Pan-RSV assay

- A 2014年から2021年までで10株
- B 2010年から2021年までで78株の増幅領域をシーケンス



Article

Practical Validation of United States Centers for Disease Control and Prevention Assays for the Detection of Human Respiratory Syncytial Virus in Pediatric Inpatients in Japan

Reiko Suwa ¹, Yohei Kume ², Miyuki Kawase ¹, Mina Chishiki ², Takashi Ono ², Sakurako Norito ², Ko Sato ³, Michiko Okamoto ³, Satoru Kumaki ⁴, Yukio Nagai ⁵, Mitsuaki Hosoya ², Makoto Takeda ¹, Hidekazu Nishimura ³, Koichi Hashimoto ² and Kazuya Shirato ^{1,*}

Sequence Pattern	Forward (5' → 3')	Probe (3' ← 5')	Reverse (3' ← 5')	Number/Total Reads
	GGCAAATATGGAAACATACGTGAA	AGCTTCACGAAGGCTCCACATACACAG	CTGTTCAATACAATGTCCTAGAAAAAGA	
1	- *	A <u>A</u> CTTCACGAGGGCTCCACATACACAG	-	9/10
2	-	A <u>A</u> CTTCACGAGGGCTCCACATACACAG	CTGTTCAATACAATGTCCTG <u>G</u> AAAAAGA	1/10

* no mismatch.

Table 3. Mismatches in the primers/probe of the Pan-RSV assay for subgroup B.

Sequence Pattern	Forward (5' → 3')	Probe (3' ← 5')	Reverse (3' ← 5')	Number/Total Reads
	GGCAAATATGGAAACATACGTGAA	AGCTTCACGAAGGCTCCACATACACAG	CTGTTCAATACAATGTCCTAGAAAAAGA	
1	- *	-	CTGTTCAAGTACAATGTT <u>I</u> CTAGAAAAAGA	20/78
2	GGCAAATATGGAAACA <u>C</u> ACGTGAA	-	CTGTTCAAGTACAATGTT <u>I</u> CTAGAAAAAGA	1/78
3	-	-	CTGTTCAAGTACAATGTT <u>A</u> TAGAAAAAGA	2/78
4	-	-	CTGTT <u>C</u> AGTACAATGTT <u>I</u> CTAGAAAAAGA	46/78
5	-	-	CTGTTCAAGTACAATGTT <u>I</u> CTAGAAAA <u>G</u> GA	2/78
6	-	-	CTGTT <u>C</u> AGTACAATGTT <u>I</u> CTG <u>G</u> AGAAAGA	1/78
7	-	AGCTTCACGAAG <u>A</u> CTCCACATACACAG	CTGTTCAAGTACAATGTT <u>I</u> CTAGAAAAAGA	1/78
8	-	AGCTTCACGAAG <u>A</u> CTCCACA <u>CA</u> ACAG	CTGTTCAAGTACAATGTT <u>I</u> CTAGAAAAAGA	3/78
9	-	AGCTTCACGAAGGCTCCACA <u>CA</u> ACAG	CTGTTCAAGTACAATGTT <u>I</u> CTAGAAAAAGA	2/78

* no mismatch.

5'末端から12番目は100%

A

B

2016年以降 ↑ ↑

RSVのグローバルサーベイランス(2nd Phase)における検査法

・ 米国CDC法② Duplex assay

2019年から行われている2nd Phase パイロットサーベイランスで採用されていると思われる。

サブグループA、Bに共通するプライマー、A、Bそれぞれを認識するプローブ2種を用いて1ウェルで検出とサブグループングが行える。

2014年以降、**CDC法①ではないUKのセット**でBのプローブ部分に変異が発生し、IFA陽性、PCR陰性が増えたと報告があり、CDCでも改めて近年の株で再設計した。AgPathで動く。

→ヒトオルソニューモウイルス病原体検出マニュアル3.0版から掲載



Journal of Virological Methods
Volume 271, September 2019, 113676



Duplex real-time RT-PCR assay for detection and subgroup-specific identification of human respiratory syncytial virus

Lijuan Wang^a, Pedro A. Piedra^{b, c}, Vasanthi Avadhanula^{b, c}, Edison L. Durigon^d, Ann Machabishvili^e, María-Renée López^f, Natalie J. Thornburg^g, Teresa C.T. Peret^{g, h, i}

Show more ▾

CDC method 2		Long(AY911262)
Forward	ATGGCTCTTAGCAAAGTCAAGT	1140-1161
Reverse	TGCACATCATAATTRGGAGTRTCA	1261-1238
Probe A	FAM-ACACTCAACAAAGAXCAACTTCTRTCATCCAGCA-Phosphate	X=BHQ-1-dT 1170-1203
Probe B	TEXs-RED-ACATTAAATAAGGAXCAGCTGCTGTCATCCAGCA-Phosphate	X=BHQ-2-dT

```

      *      1160      *      1180      *      1200      *      1220      *
Long  : GATGGCTCTTAGCAAAGTCAAGTGAATGATACACTCAACAAAGATCAACTTCTGTCATCTAGCAAATACACCATCCAACGGAGCACAGGAGATA : 1233
A2    : GATGGCTCTTAGCAAAGTCAAGTGAATGATACACTCAACAAAGATCAACTTCTGTCATCCAGCAAATACACCATCCAACGGAGCACAGGAGATA : 1189
B1    : GATGGCTCTTAGCAAAGTCAAGTAAATGATACATTAAATAAGGATCAGCTGCTGTCATCCAGCAAATACACTATTCAACGTAGTACAGGAGATA : 1233
      GATGGCTCTTAGCAAAGTCAAGTgAATGATACAcTcAAcAAaGATCAActtCTGTCATCcAGCAAATACACcATcCAACGgAGcACAGGAGATA

      1240      *      1260      *      1280      *      1300      *      1320      *
Long  : GTATTGATACTCCCTAATTATGATGTGCGAAACACATCAATAAGTTATGTGGCATGTTATTAATCACAGAAGATGCTAATCATAAAATTCACCTGGG : 1328
A2    : GTATTGATACTCCCTAATTATGATGTGCGAAACACATCAATAAGTTATGTGGCATGTTATTAATCACAGAAGATGCTAATCATAAAATTCACCTGGG : 1284
B1    : ATATTGACACTCCCAATTATGATGTGCGAAAACACCTAAACAAACTATGTGGTATGCTATTAATCACTGAAGATGCAAATCATAAAATTCACAGGA : 1328
      gTATTGAtACTCCcTAATTATGATGTGcAGAAACACaTcAAtAAGtTATGTGGcATGtTATTAATCACaGAAGATGctAATCATAAAATTCACtGGg
  
```

RSVのグローバルサーベイランス(1st Phase)における検査法

- 米国CDC法② Duplex assay



Article

Practical Validation of United States Centers for Disease Control and Prevention Assays for the Detection of Human Respiratory Syncytial Virus in Pediatric Inpatients in Japan

Reiko Suwa¹, Yohei Kume², Miyuki Kawase¹, Mina Chishiki², Takashi Ono², Sakurako Norito², Ko Sato³, Michiko Okamoto³, Satoru Kumaki⁴, Yukio Nagai⁵, Mitsuaki Hosoya², Makoto Takeda¹, Hidekazu Nishimura³, Koichi Hashimoto² and Kazuya Shirato^{1,*}

GenBankに登録のある2016年以降の1185の(ほぼ)全長配列を調べるとプライマー領域にはあまりミスマッチがない。

		Year Registered	All	2010–2015	2016–2022
		Total number	2935	1069	1185
Pan-RSV	Forward	Number of mismatched sequences (Within 10 nucleotides from the 3'-end)	60 (2.0%)	4 (0.37%)	6 (0.5%)
			57 (1.9%)	3 (0.28%)	6 (0.5%)
	Reverse	Number of mismatched sequences (Within 10 nucleotides from the 3'-end)	1457 (49.7%)	456 (42.7%)	703 (59.3%)
			275 (9.4%)	10 (0.9%)	257 (21.7%)
	Probe	Number of mismatched sequences	1579 (53.8%)	623 (58.3%)	544 (45.9%)
Duplex	Forward	Number of mismatched sequences (Within 10 nucleotides from the 3'-end)	N.D. *	N.D.	25 (2.1%)
			N.D.	N.D.	18 (1.5%)
	Reverse	Number of mismatched sequences (Within 10 nucleotides from the 3'-end)	N.D.	N.D.	34 (2.9%)
			N.D.	N.D.	3 (0.3%)

* N.D., not determined.

・ 米国CDC法②

CDC method 2			Long(AY911262)
Forward	ATGGCTCTTAGCAAAGTCAAGT		1140-1161
Reverse	TGCACATCATAATTRGGAGTRTCA		1261-1238
Probe A	FAM-ACACTCAACAAAGAXCAACTTCTRTCATCCAGCA-Phosphate	X=BHQ-1-dT	1170-1203
Probe B	TEXs-RED-ACATTAATAAGGAXCAGCTGCTGTCATCCAGCA-Phosphate	X=BHQ-2-dT	

↑ internal quencher

AgPATH-ID使用

論文記載

45°C	10min	} 45サイクル
95°C	10min	
95°C	15sec	
55°C	15sec	

NIIDインフルエンザウイルス検査
マニュアルと合わせるため

55°C	10min	} 45サイクル
95°C	10min	
95°C	15sec	
56°C	30sec	
72°C	15sec	



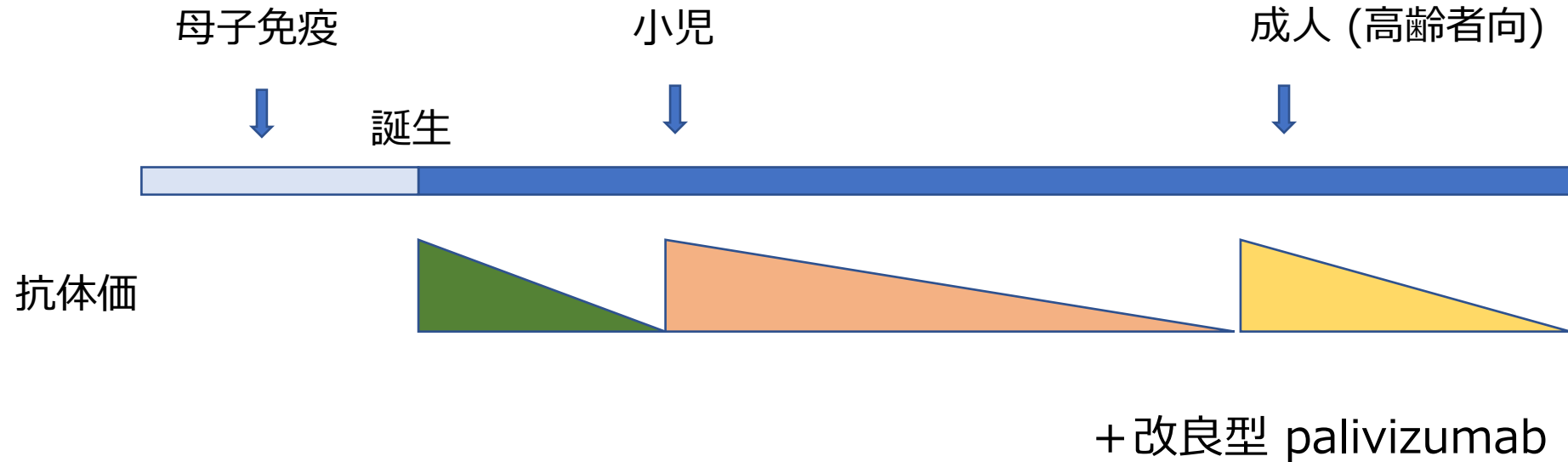
Article
Practical Validation of United States Centers for Disease Control and Prevention Assays for the Detection of Human Respiratory Syncytial Virus in Pediatric Inpatients in Japan

Reiko Suwa¹, Yohei Kume², Miyuki Kawase¹, Mina Chishiki², Takashi Ono², Sakurako Norito², Ko Sato³, Michiko Okamoto³, Satoru Kumaki⁴, Yukio Nagai⁵, Mitsuaki Hosoya², Makoto Takeda¹, Hidekazu Nishimura³, Koichi Hashimoto² and Kazuya Shirato^{1,*}

インフルエンザとの同時検査も可能

<https://www.mdpi.com/2076-0817/11/7/754>

WHOのRSVワクチン戦略

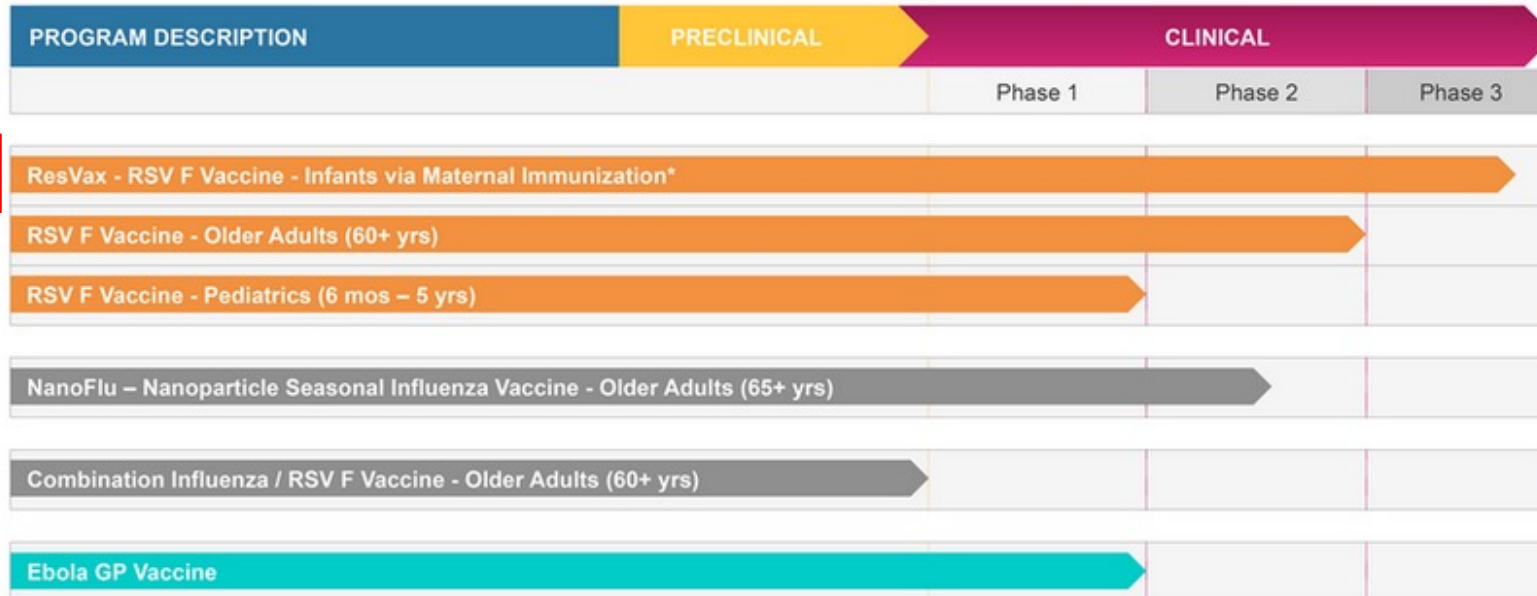


- 母子免疫により6か月齢未満を保護
- 母子免疫の低下する時期に接種して幼児期を保護
- 成人用ワクチンによって高齢者を保護
- ワクチン接種が困難な患者を改良型palivizumabで保護(シーズン1回接種)



CLINICAL STAGE PIPELINE

Our product pipeline includes vaccine candidates engineered to elicit differentiated immune responses with the potential to provide increased protection. Our nanoparticle technology targets antigens with conserved epitopes essential for viral function. Unlike traditional vaccines that 'mimic' viruses and elicit naturally occurring immune responses to them, our nanoparticles are engineered to elicit differentiated immune responses, which may be more efficacious than naturally-occurring immunity. Our vaccine technology has the potential to be applied broadly to a wide variety of human infectious diseases.



母子免疫用

2019年頃の
臨床試験の状況

RESVAXTM

母子免疫ワクチンはフェイズ3進行中だった。

妊娠3期(28-40w)

Novavax社は臨床試験のために自社で流行状況データを採取していた。

*Supported by the \$89.1 million grant from the Bill and Melinda Gates Foundation.

ORIGINAL ARTICLE

Respiratory Syncytial Virus Vaccination during Pregnancy and Effects in Infants

S.A. Madhi, F.P. Polack, P.A. Piedra, F.M. Munoz, A.A. Trenholme, E.A.F. Simões, G.K. Swamy, S. Agrawal, K. Ahmed, A. August, A.H. Baqui, A. Calvert, J. Chen, I. Cho, M.F. Cotton, C.L. Cutland, J.A. Englund, A. Fix, B. Gonik, L. Hammitt, P.T. Heath, J.N. de Jesus, C.E. Jones, A. Khalil, D.W. Kimberlin, R. Libster, C.J. Llapur, M. Lucero, G. Pérez Marc, H.S. Marshall, M.S. Masenya, F. Martínón-Torres, J.K. Meece, T.M. Nolan, A. Osman, K.P. Perrett, J.S. Plested, P.C. Richmond, M.D. Snape, J.H. Shakib, V. Shinde, T. Stoney, D.N. Thomas, A.T. Tita, M.W. Varner, M. Vatish, K. Vrbicky, J. Wen, K. Zaman, H.J. Zar, G.M. Glenn, and L.F. Fries, for the Prepare Study Group*

ABSTRACT

BACKGROUND

Respiratory syncytial virus (RSV) is the dominant cause of severe lower respiratory tract infection in infants, with the most severe cases concentrated among younger infants.

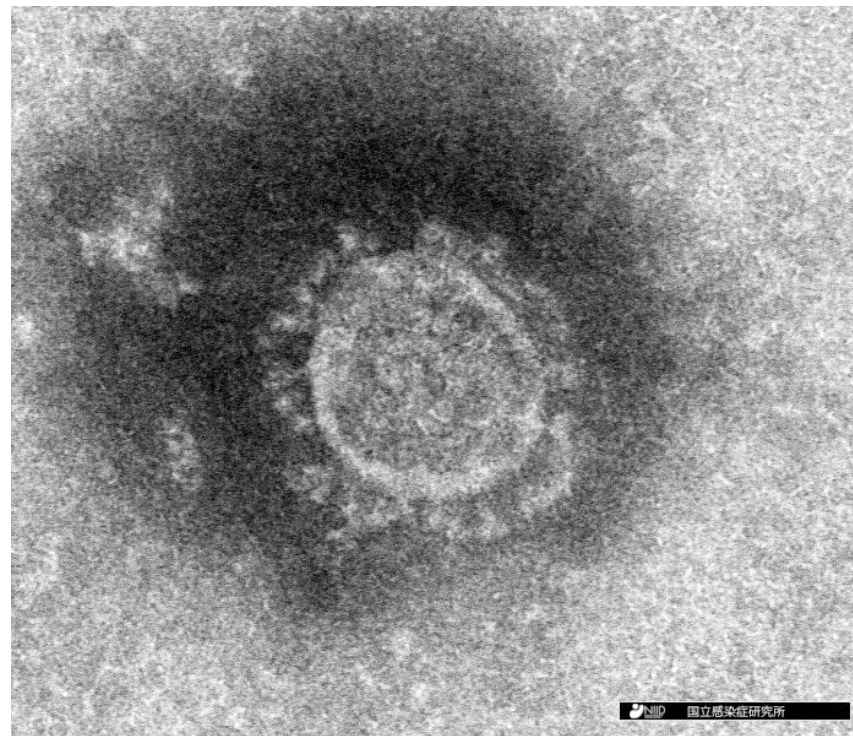
METHODS

Healthy pregnant women, at 28 weeks 0 days through 36 weeks 0 days of gestation, with an expected delivery date near the start of the RSV season, were randomly assigned in an overall ratio of approximately 2:1 to receive a single intramuscular dose of RSV fusion (F) protein nanoparticle vaccine or placebo. Infants were followed for 180 days to assess outcomes related to lower respiratory tract infection and for 364 days to assess safety. The primary end point was RSV-associated, medically significant lower respiratory tract infection up to 90 days of life, and the primary analysis of vaccine efficacy against the primary end point was performed in the per-protocol population of infants (prespecified criterion for success, lower bound of the 97.52% confidence interval [CI] of $\geq 30\%$).

RESULTS

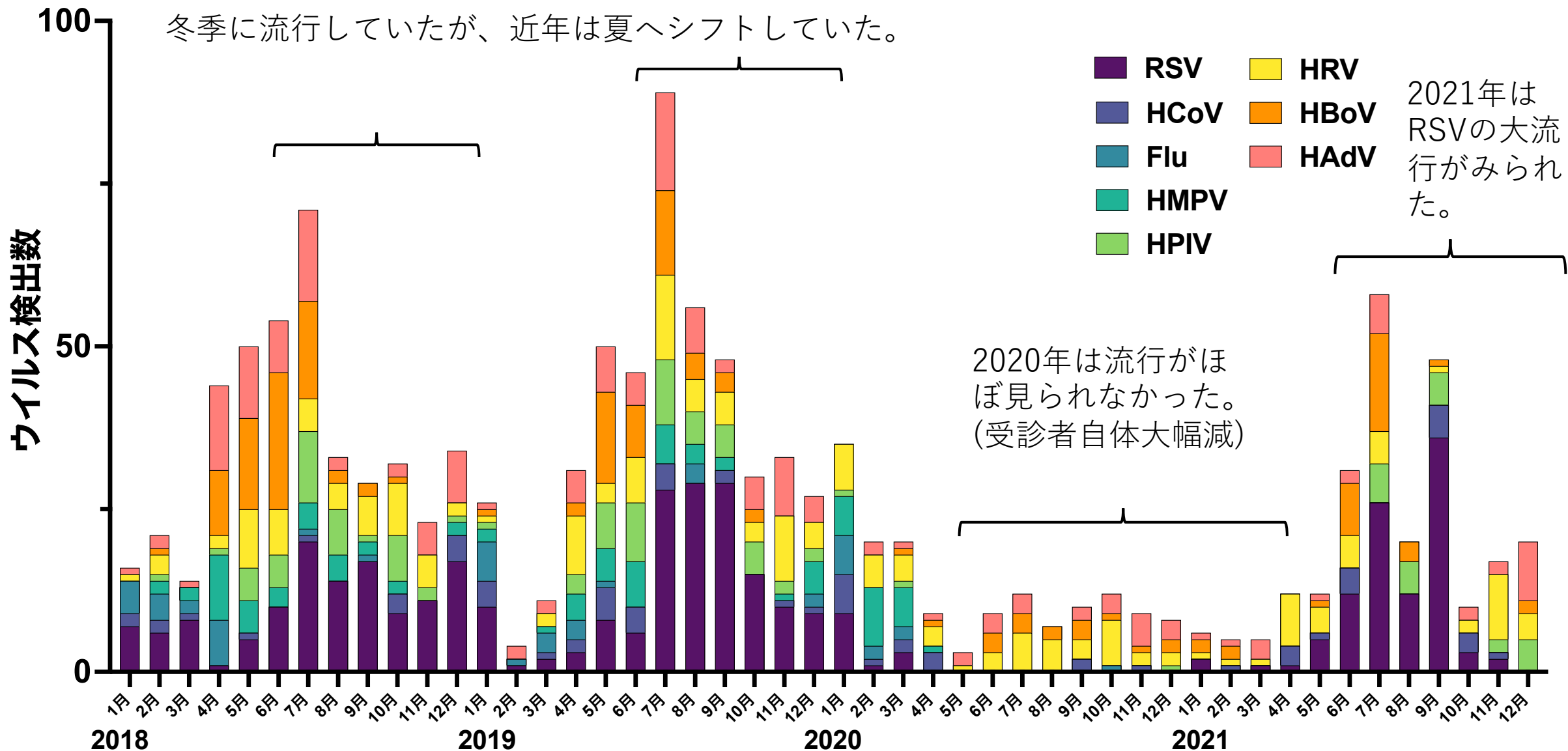
A total of 4636 women underwent randomization, and there were 4579 live births. During the first 90 days of life, the percentage of infants with RSV-associated, medically significant lower respiratory tract infection was 1.5% in the vaccine group and 2.4% in the placebo group (vaccine efficacy, 39.4%; 97.52% CI, -1.0 to 63.7; 95% CI, 5.3 to 61.2). The corresponding percentages for RSV-associated lower respiratory tract infection with severe hypoxemia were 0.5% and 1.0% (vaccine efficacy, 48.3%; 95% CI, -8.2 to 75.3), and the percentages for hospitalization for RSV-associated lower respiratory tract infection were 2.1% and 3.7% (vaccine efficacy, 44.4%; 95% CI, 19.6 to 61.5). Local injection-site reactions among the women were more common with vaccine than with placebo (40.7% vs. 9.9%), but the percentages of participants who had other adverse events were similar in the two groups.

2019年
期待のNovavax社の母子免疫ワクチン
(RESVAX) は目標の基準を満たせなかった。
米国FDAは追加の第III相試験を要求した。



新型コロナウイルスの発生ですべて止まってしまった。

新型コロナ発生前後の呼吸器ウイルス感染状況



moderna®

Pfizer

AstraZeneca

Janssen
PHARMACEUTICAL COMPANIES OF
Johnson & Johnson



SARS-CoV-2に対するワクチン開発は急速にすすみ、わずか1年で実用化されている

これらにはRSVなど他のワクチンにおける知見の蓄積が非常に役立っている。

主な承認済み新型コロナウイルス(緊急使用許可含む)

開発元	名称	販売名	剤型	国内
ファイザー・ビオンテック	BNT-162b	Comirnaty(コミナティ筋注)	mRNA	承認
モデルナ	mRNA-1273	Spikevax(COVID-19ワクチンモデルナ筋注)	mRNA	承認
アストラゼネカ・オックスフォード	AZD1222 (ChAdOx1)	Vaxzevria(バキスゼブリア筋注)	アデノウイルスベクター	承認
Novavax	NVX-CoV2373	Nuvaxovid(ヌバキソビッド)	ナノパーティクル	承認
ヤンセンファーマ	Ad26.COV.S	COVID-19 Vaccine Janssen(ジェコビデン筋注)	アデノウイルスベクター	承認
Gamaleya	Gam-COVID-Vac	Sputnik V	アデノウイルスベクター	
Sinovac	PiCoVacc	CoronaVac	不活化	
Sinopharm		BBIBP-CorV (Vero Cells)	不活化	

これまでになかった剤型が続々承認されている。

RSV Vaccine and mAb Snapshot

TARGET INDICATION: P = PEDIATRIC M = MATERNAL E = ELDERLY

弱毒化生

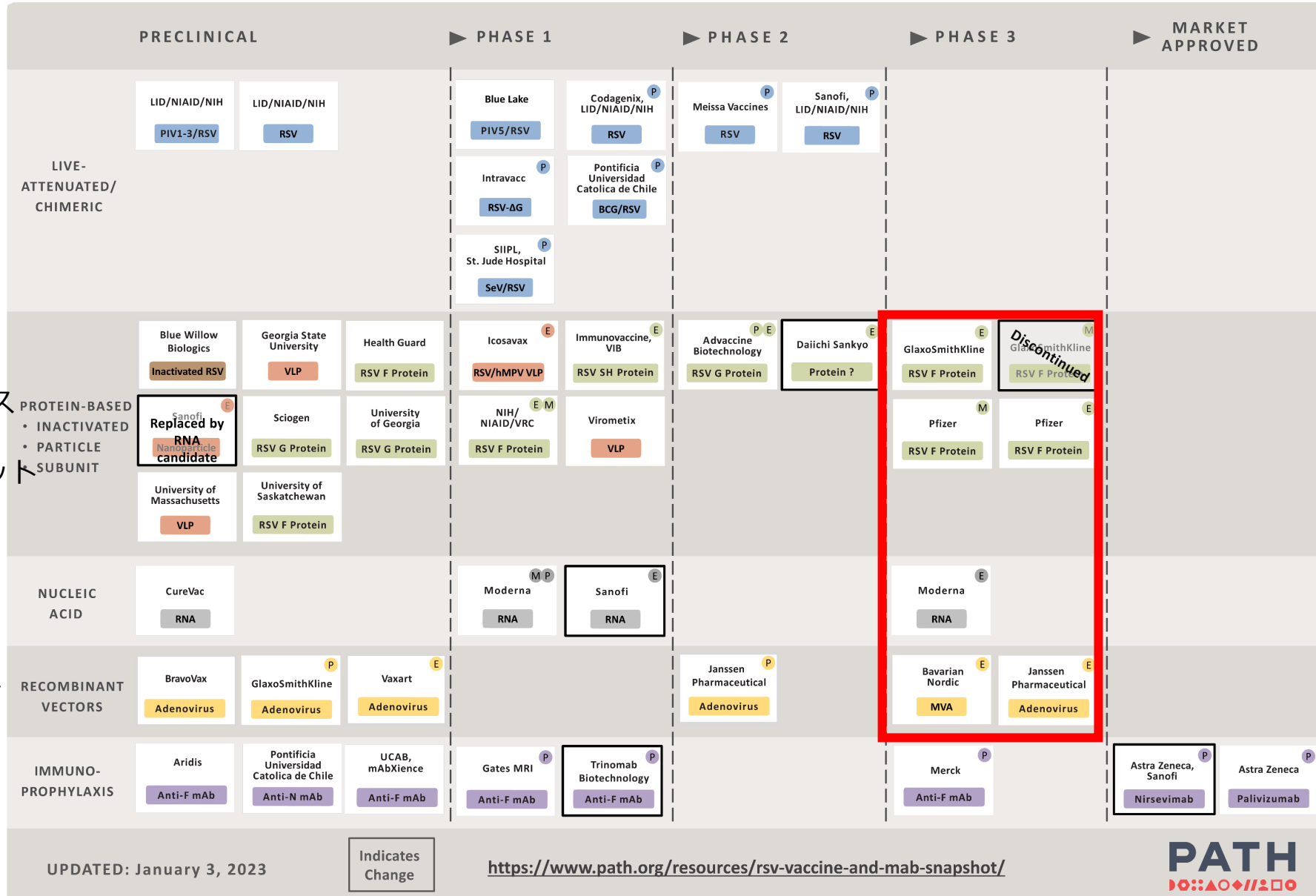
不活化

粒子ベース
サブユニット

核酸

組み換え
ベクター

予防的
抗体薬



RSVワクチンでもいくつかのワクチンがぞくぞくと第III相試験に入っている。

GSK、ファイザーの組換えワクチン

ヤンセンファーマのベクターワクチン

モデルナの核酸ワクチン

ただ、先行しているのは「高齢者向け」ワクチン、次に母子免疫用であり、小児用の開発は進んでいない。

UPDATED: January 3, 2023

Indicates Change

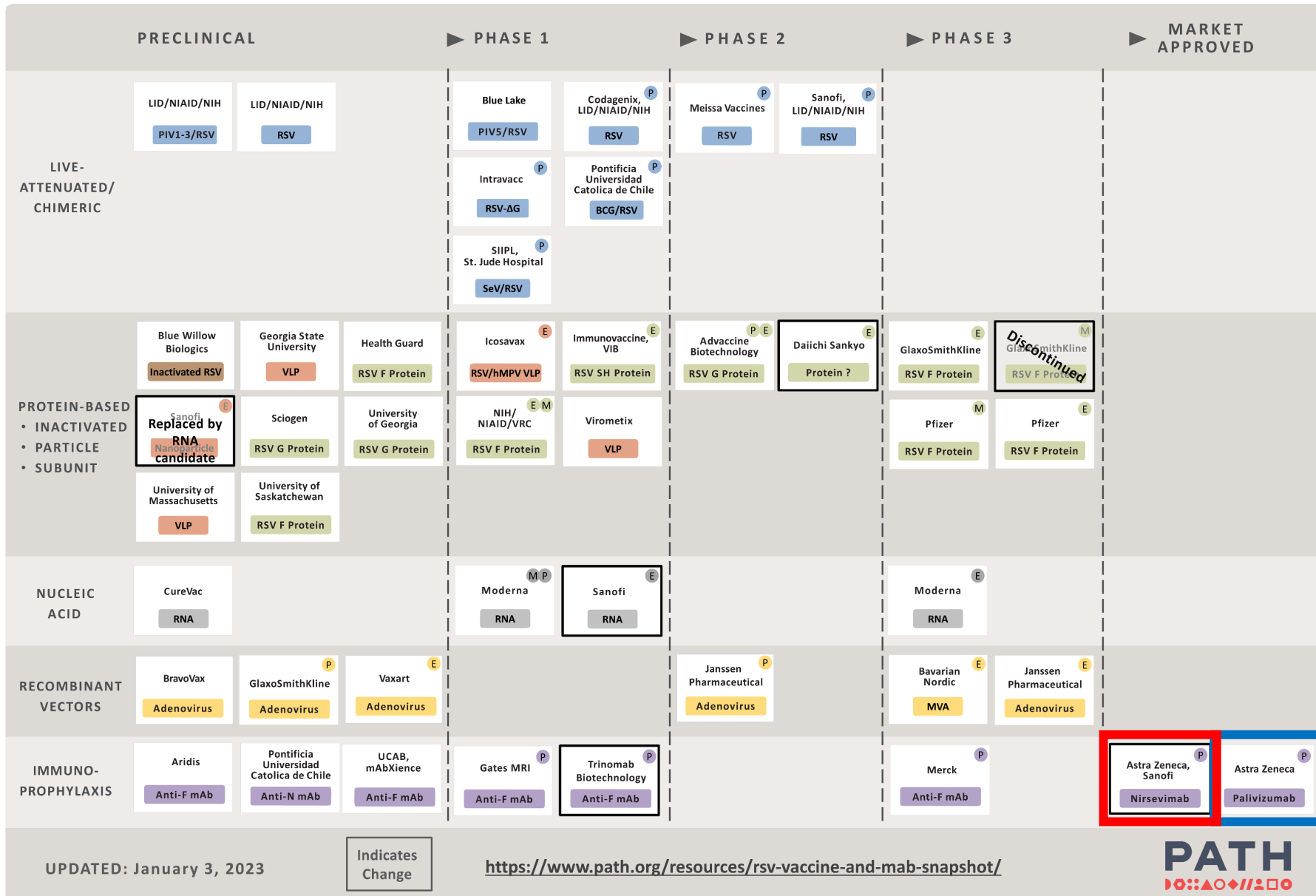
<https://www.path.org/resources/rsv-vaccine-and-mab-snapshot/>

PATH
IO::AOD///□□

RSV Vaccine and mAb Snapshot

TARGET INDICATION: P=PEDIATRIC M=MATERNAL E=ELDERLY

<https://med.astrazeneca.co.jp/product/SNG.html#>



抗体医薬品
 パリビズマブ
 商品名シナジス
 (流行期の間、月1回筋注)

UPDATED: January 3, 2023

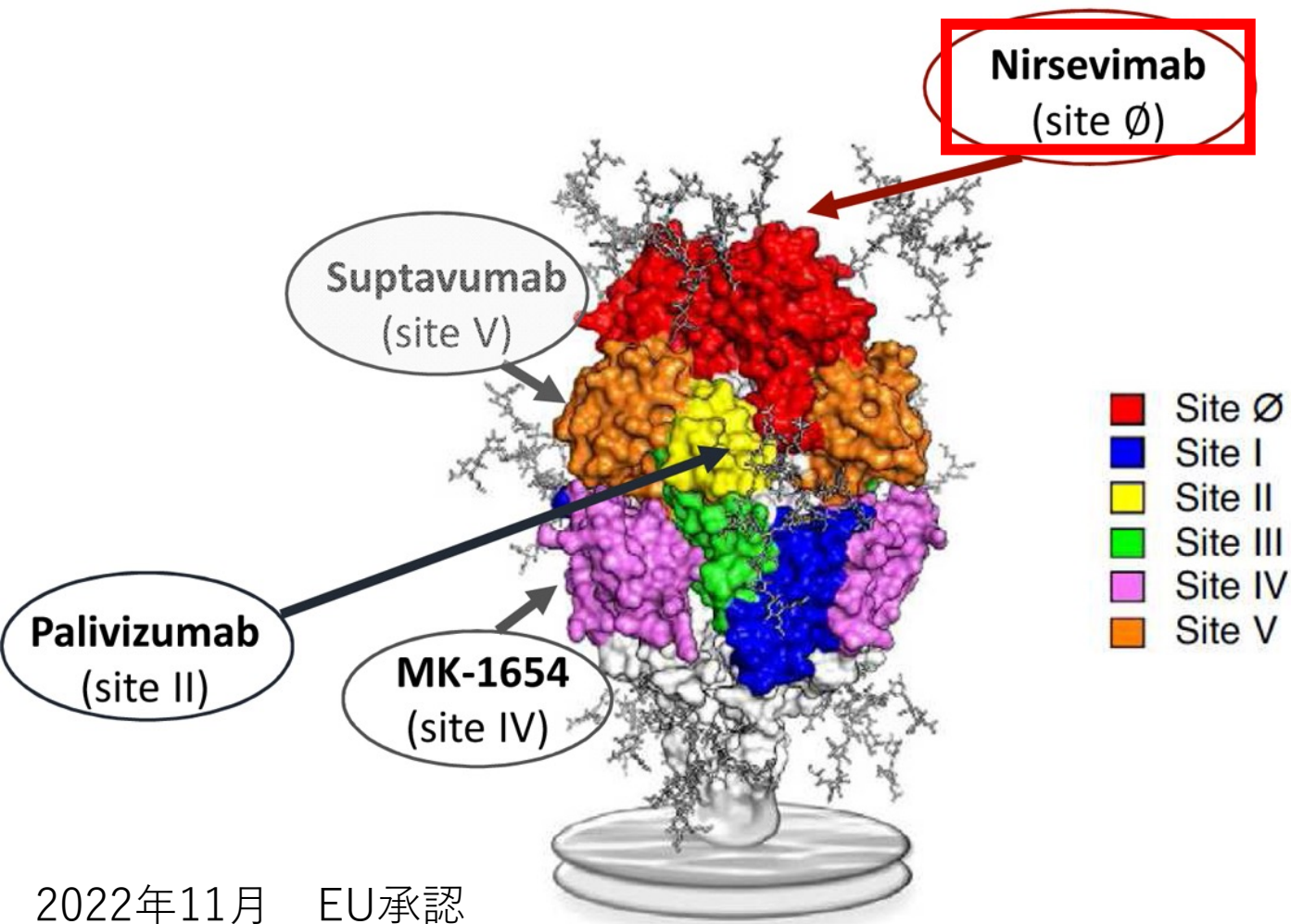
Indicates Change

<https://www.path.org/resources/rsv-vaccine-and-mab-snapshot/>



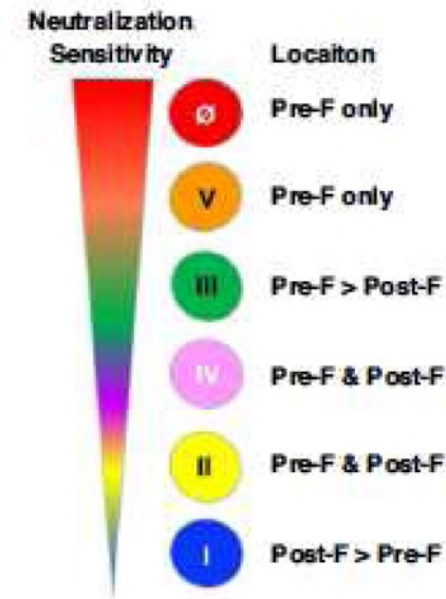
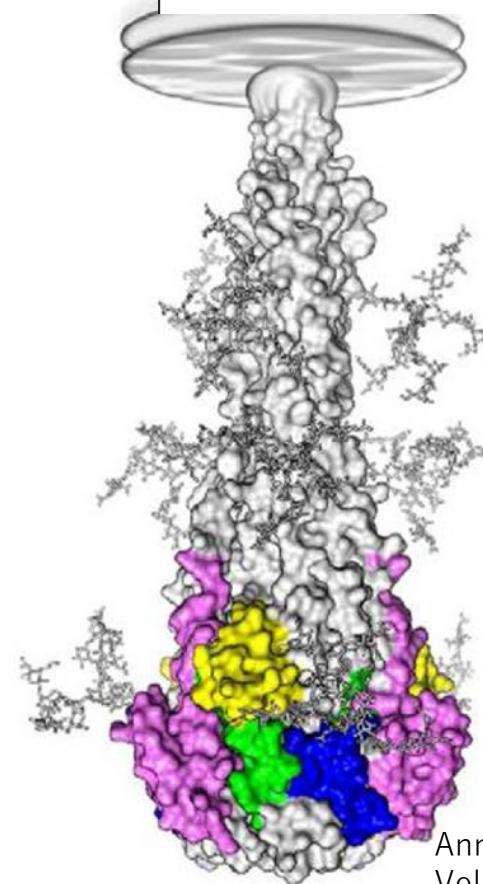
半減期延長型抗体製剤のニルセビマブが第3層試験中
 (エピトープの site 0 を認識)
 (流行期に1回接種)

Pre-F



Nirsevimab
 Aiming for RSV prophylaxis
 for all infants

July 30, 2020



2022年11月 EU承認

高齢者向け RSVワクチン



Behind the science

Global website

Contact us

Search

About us

Products

Careers

Investors

Media

Research and development

Responsibility

Home > Media > Press releases > GSK starts Phase III RSV candidate va...

🕒 16 February 2021

GSK starts Phase III RSV candidate vaccine programme for older adults

For media and investors only

Issued: London, UK

- RSV-associated lower respiratory tract-diseases (LRTDs) are estimated to cause around 360,000 hospitalisations and 24,000 deaths in older adults (60+) annually in developed countries
- First Phase III study evaluates the immunogenicity, safety, reactogenicity and persistence, to be followed by a separate Phase III study assessing vaccine efficacy

FDA、EU、カナダ、日本で
同時申請中

Prefusion formのFタンパク質
サブユニットワクチン
アジュバントはGSKのAS01E
同剤型は帯状疱疹(シングリックス)が承認済み

本邦では成人と対象としたRSVサーベイランスに対する法的根拠がない。

<https://www.gsk.com/en-gb/media/press-releases/gsk-starts-phase-iii-rsv-candidate-vaccine-programme-for-older-adults/>

Pfizer Press release

Vaccines

Pfizer Announces Positive Top-Line Data of Phase 3 Global Maternal Immunization Trial for its Bivalent Respiratory Syncytial Virus (RSV) Vaccine Candidate

Tuesday, November 01, 2022 - 06:30am



- *Vaccine efficacy of 81.8% was observed against severe medically attended lower respiratory tract illness due to RSV in infants from birth through the first 90 days of life with high efficacy of 69.4% demonstrated through the first six months of life*
- *The RSVpreF investigational vaccine was well-tolerated with no safety concerns for both vaccinated individuals and their newborns*
- *Results met one of the study protocol's pre-specified regulatory success criteria, and Pfizer plans to submit its first regulatory application by end of 2022*
- *If approved, Pfizer's RSV vaccine candidate could be the first maternal vaccine available to help prevent this common and potentially life-threatening respiratory illness in young infants*
- *Pfizer currently the only company with an investigational vaccine being prepared for regulatory applications for both infants through maternal immunization and older adults to help protect against RSV*

NEW YORK--(BUSINESS WIRE)-- Pfizer Inc. (NYSE: PFE) today announced positive top-line data



ファイザー社の組換えタンパクワクチン
母子免疫 高齢者兼用

**引き続き、PCRベースの乳幼児の
サーベイランスの拡充が必要**

<https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-announces-positive-top-line-data-phase-3-global>

ABOUT JANSSEN

TALENT

INNOVATION

COLLABORATION

EXPERTISE

SUSTAINABILITY

PRODUCTS

TRANSPARENCY



ヤンセン社のアデノ
ベクターワクチン
(SARS-CoV-2用と同
じもの)

小児 高齢者兼用

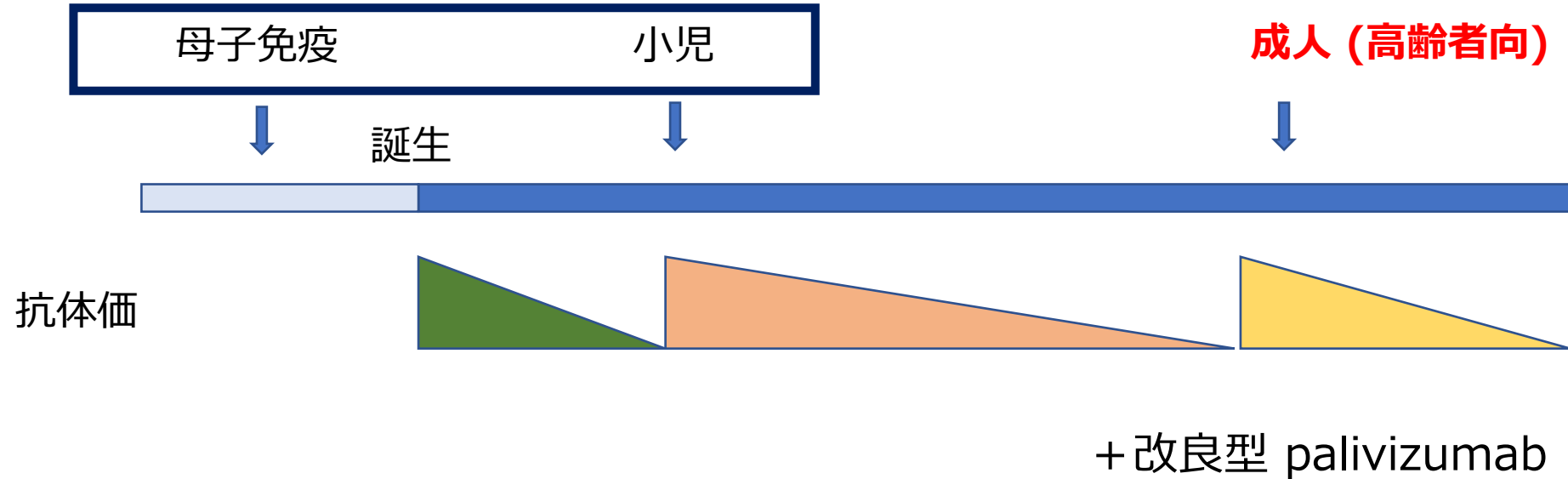
At Janssen, we work hard to combat the effects of infectious diseases. This is very much needed as each year infectious diseases account for 15% of all deaths worldwide¹. Therefore, our colleagues in our “Infectious Diseases and Vaccines” team are highly motivated to work on ways to deliver an end-to-end approach to prevent, treat, and cure infectious diseases. Within this area of expertise, we work on: respiratory infections, bacterial infections (such as tuberculosis), viral infections (such as HIV, hepatitis B and **Ebola**) and other health concerns around the world (such as COVID-19). Respiratory syncytial virus (RSV) is one of the respiratory viral infections we are working on: relatively unknown but it impacts millions of people worldwide²

What is RSV?

RSV is a common and very contagious virus which causes infections of the respiratory tract³. Although the disease is most common in young children, adults can be infected with RSV as well. Almost all young children get infected by the virus in the first year of life⁴. Moreover, every year 160,000 people die as a consequence of RSV worldwide⁴. In the worst-case scenario, RSV causes life-threatening situations. Also, in the elderly or

小児用の開発は遅れている

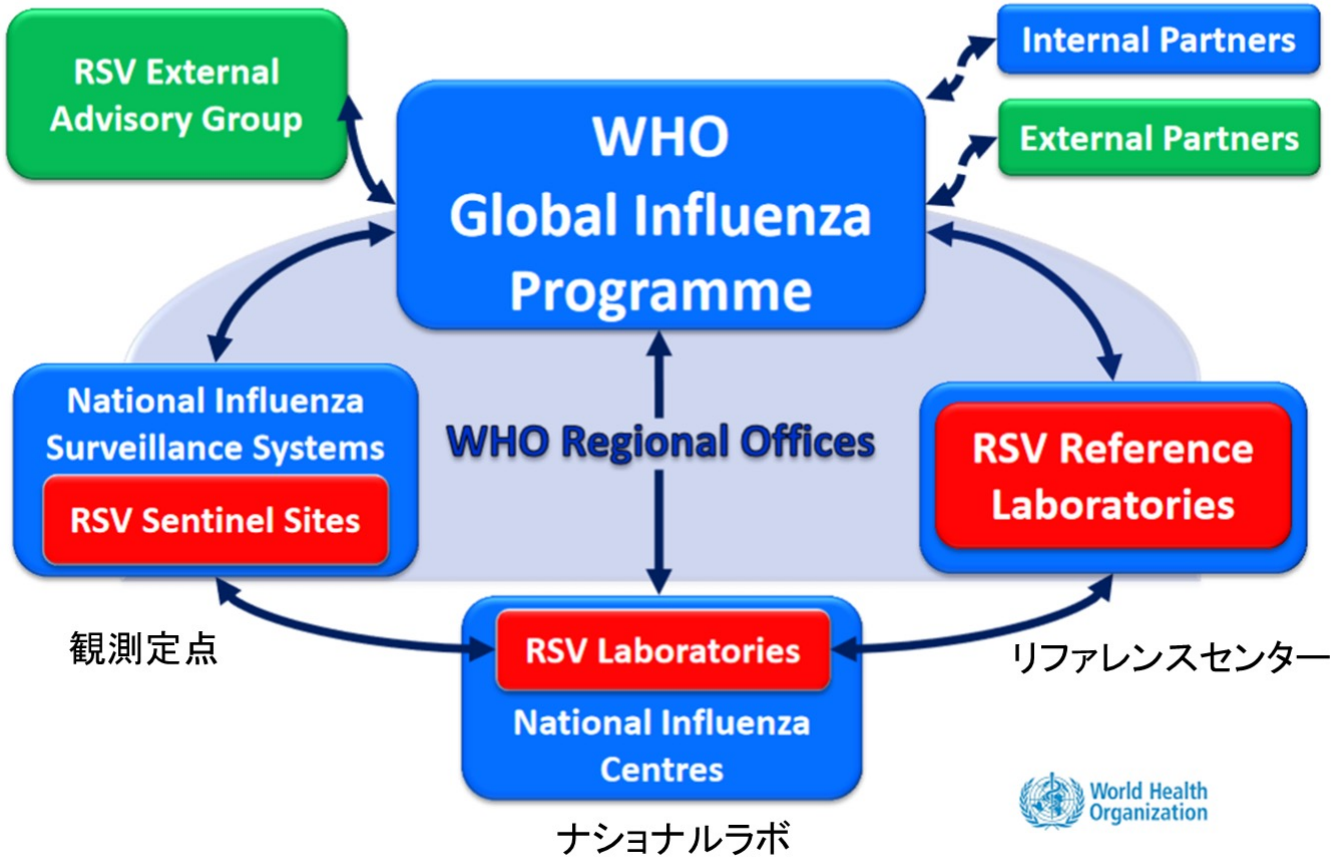
WHOのRSVワクチン戦略（繰返し）



- 母子免疫により6か月齢未満を保護
- 母子免疫の低下する時期に接種して幼児期を保護
- 成人用ワクチンによって高齢者を保護
- ワクチン接種が困難な患者を改良型palivizumabで保護(シーズン1回接種)

RSウイルスのグローバルサーベイランスシステム (繰返し)

WHO Global RSV Surveillance System



世界保健機関(WHO)は2015年から既存のグローバルインフルエンザサーベイランスシステム(GISRS)を流用したRSウイルスのサーベイランスシステムを構築するための議論を始めた。

- ・ ウイルス検出はリアルタイムRT-PCR法による。
- ・ SARI(重症呼吸器感染)、ILI(インフルエンザ様疾患)といった症例定義でエントリーした患者が対象。

- ・ **全年齢**が対象。

国内のRSウイルスのサーベイランスシステム (繰返し)

- ・我が国では2003年より感染症法における5類感染症となり、「患者発生報告」の対象となっている。約3,000の**小児科定点**医療機関による届け出による報告であり、陽性例の報告のみである(疾病サーベイランス)。

- ・2014年の感染症法改正において都道府県単位で対象として選択できるようになるまで、RSウイルスは「病原体検出報告」の対象ではなかった。(全国的に病原体サーベイランスの対象になっていない。)

- ・現状、ほとんどの陽性例は抗原キットによる報告であり、PCRによる報告は数%である。

→ どのように(高齢)成人のデータを採取するのか？

(法的には小児科定点のみ？)

(抗原キットではdryなadultでは検査できない)



World Health
Organization

20, AVENUE APPIA – CH-1211 GENEVA 27 – SWITZERLAND – TEL CENTRAL +41 22 791 2111 – FAX CENTRAL +41 22 791 3111 – [WWW.WHO.INT](http://www.who.int)

2nd WHO Global e-Consultation on the Integrated Sentinel Surveillance of Influenza and SARS-CoV-2 and the Development of GISRS Plus

Virtual

12 – 14 October 2021

Background

The first WHO consultation from 6 – 8 October 2020 developed [interim guidance](#) of epidemiological and laboratory surveillance of influenza and SARS-CoV-2 using the Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) and associated systems. Since the implementation of the interim guidance, including [expediting GISRS genomic surveillance](#) component as part of global efforts, enormous experience has been gained at national, regional and global levels. Meanwhile, the approach of integrated surveillance of influenza and SARS-CoV-2 to address critical public health needs of both influenza and SARS-CoV-2 at the same time using existing systems has been welcome by countries and supported by international agencies.

GISRS Plus

既存のGISRSの枠組みにSARS-CoV-2を加える。

RSウイルスやネクストパンデミックウイルスが入ることも想定。

病原体個別のサーベイから網羅的なものへ

今後のRSウイルス感染症サーベイランスの課題

- ・ 新型コロナウイルスの影響で既存のCommon diseasesのこれまでのトレンドが大きく崩れている。
あらためてデータを継続して採取していく必要がある。
- ・ 高齢者向けワクチンの導入に備え、内科定点等、成人(高齢者)検体を用いたRSVサーベイランスの可能性を検討する必要がある。(法的根拠?)
- ・ 各病原体それぞれのpassiveなサーベイ以外に、網羅的な分母のあるサーベランスの枠組み(activeサーベイ)のための議論が必要。